

LIBLIKÕIELISTE HEINTAIMEDE PROTEIINI LÕHUSTUVUSEST

H. Kaldmäe, A. Olt, M. Vadi

ABSTRACT. Protein degradability of legumes. Kinetics of ruminal protein degradability of fresh lucerne and red clover, and that of silage prepared from them, also the effects of legume species, variety and additive on silage degradability were studied. Test silage from hybrid lucerne varieties 'Karlu' and 'Jõgeva 118', and from red clover varieties 'Jõgeva 433', 'Varte', 'Jõgeva 205' and 'Ilte' were conserved into 3-litre jars at early bloom stage. Protein degradability was investigated by the method of in sacco with fistulated cows.

The protein degradability of fresh grass and that of silage from the same material are different. The effective degradability of fresh red clover was 67% and that of red clover silage 75%; the same values for hybrid lucerne were 77% and 85%, respectively.

The effective protein degradability of silages from different lucerne varieties varied from 82 to 85% and that from red clover varieties from 74 to 77% at the same stage of development. A chemical additive slowed down silage protein degradability in the rumen to 16 incubation hours and decreased the effective degradability by 2%, compared to the silage prepared without an additive. Silage protein degradability in the rumen is affected by legume species and to a lesser degree by a variety.

Keywords: legume, silage, protein, degradability, lucerne, red clover.

Sissejuhatus

Kõrgaretusega karja põhisöödaks Euroopa maadel on tavaliselt silo. Suurem osa silost valmistatakse kas kõrrelistest või liblikõielistest heintaimedest ja vilisest.

Liblikõielised heintaimed on tuntud kui proteiinirikkad söödad, kuid mäletsejalised kasutavad nende proteiini, eriti sileeritud söödast, väheefektiivselt (Mariecia jt, 1999).

Värske rohu üldlämmastikust on 75–90% valguline proteiin. Ülejäänud moodustavad peptiidid, amiidid, vabad aminohapped, nukleotiidid, ureiidid, nitraadid jt mittevalgulised lämmastikühendid (McDonald jt, 1991). Pärast niitmist toimuvad taimerakkudes intensiivsed proteolüütilised protsessid ensüümide toimetel, mille tulemusena peptiidsidemed hüdrolüüsuvad. Proteolüütilised protsessid toimuvad nii heintaimede närvutamisel kui sileerumisel anaeroobsetes tingimustes.

Värske rohu närvutamisel sõltub proteiini hüdrolüüsi protsessi intensiivsus eelkõige ilmastikutingimustest (Owens jt, 1999). 24-tunnisel heintaimede närvutamisel võib üldlämmastiku proteiinisisaldus langeda 0,8-lt 0,6-le (Givens, Rulquin, 2002). Närvutamisel suureneb eelkõige peptiidide, vabade aminohapete ja biogeensete amiidide osatähtsus proteiinis. Suured muutused toimuvad ka erinevate aminohapete sisalduses.

Rohu sileerumisel on proteolüüsi intensiivsus suurem kui närvutamisel ning sõltub taimede liigist ja arengufaasist, vesinikioonide kontsentratsioonist (pH), kuivainesisaldusest ja temperatuurist (Kohn, Allen, 1995; Jurgens, 1997).

Proteolüüsil anaeroobsetes tingimustes silo fermentatsioonil suureneb eelkõige vabade aminohapete ja ammoniaagisisaldus. Kui ei toimu soovitatavat piimhappelist käärimist, siis võib oluliselt suurenedagi biogeensete amiinide sisaldus, mis on loomade tervise seisukohalt ebasoovitav (Krizek, 1993).

Sileerimisprotsessis võib intensiivse proteolüüsi korral valgulise proteiini sisaldus väheneda 50–60%, mis vähendab omakorda oluliselt valgu väärtust söötmisel mäletsejalistele. Eriti intensiivselt kulgevad proteolüütilised protsessid lutserni sileerumisel, kus mittevalgulise proteiini osatähtsus üldlämmastikust võib suurenedagi 81%-ni seitsme päeva jooksul pärast hoidla sulgemist (Fairbairn jt, 1992). Jonesi jt (1995a) uurimuste järgi ulatusid lutsernist valmistatud silos proteiini kaod isegi 44–87%-ni, punase ristiku silos aga 7–40%-ni. Seejuures on oluline märkida, et lutsernis olev proteiin hüdrolüüsib sileerimisprotsessil palju enam (isegi 40%) kui punase ristiku proteiin, sest ristik sisaldab lahustuvat polüfenooloksidaasi ja lahustavaid polüfenoole, mis inaktiveerivad hüdrolüütilisi ensüüme (Jones jt, 1995b; Hatfield, Muck, 1999).

Silos oleva proteiini hüdrolüüsi ulatust ja kulgu mõjutavad ka sileerimisprotsessis osalevad mikroorganismid ja fermentatsiooni kvaliteet ning konservandid. Huhtaneni (2001) uurimustel mõjutab fermentatsiooni kvaliteet silo proteiini kasutamise efektiivsust mäletsejalistel loomadel. Kuigi rohusilo on suure proteiinisisaldusega, ei omasta mäletsejalised seda alati mitmesuguste tegurite tõttu. Givens ja Rulquin (2002) arvavad, et proteiini omastamine vatsas sõltub kõige rohkem lämmastiku-süsivesikute suhtest. Kui rohusilos on palju lõhustunud proteiini, siis ei suuda vatsa mikroorganismid seda kasutada, sest neil ei jätku kättesaadavat energiat (Kärt, Ots, 1999).

Et viimasel ajal valmistatakse üha rohkem liblikõielistest heintaimedest silo, siis oli vajalik selgitada kui efektiivselt kasutavad loomad nende proteiini. Töö eesmärgiks oli selgitada punasest ristikust ja hübriidlutsernist valmistatud silo proteiini lõhustuvuse kineetikat ning liigi, sordi ja konserveerimise mõju sellele.

Materjal ja meetodika

Katseks vajalik varase punase ristiku (*Trifolium pratense* L. *subvar. praecox* Witte) ja hilise punase ristiku (*Trifolium pratense* L. *subvar. serotium* Witte) ning hübriidlutserni (*Medicago varia* Mart) materjal koguti Jõgeva Sordiaretuse Instituudi ja Tartu Agro katsepõldudelt. Materjal hekseldati 2 cm pikkusteks tükikesteks, segati ja valmistati katesilo kolmeliitristesse purkidesse. Igast algmaterjalist valmistati konservandita ja konservandiga AIV 2000 silo kolmes korduses. Katesiloga purgid avati 90 päeva möödudes ning analüüsiti, kasutades üldtunnustatud meetodeid. Katsematerjali säilitati lõhustuvuse uurimiseks sügavkülmutikus. Materjal jahvatati külmunult ja määrati uuesti selle keemiline koostis.

Proteiini lõhustuvus määrati *in sacco* meetodil vatsafistuliga holsteini tõugu lehmadega Eerika katselaudas. Uuritud söötasid inkubeeriti vatsas 2, 4, 8, 16, 32 ja 64 tundi. Erinevatel kellaaegadel saadud lõhustuvusest arutati efektiivne lõhustuvus (EL), kasutades Ørskovi ja McDonaldi (1979) võrrandit. Söödaosakeste vatsast soolestikku liikumise kiiruseks arvestati 5% tunnis.

Uurimistulemused

Proteiini lõhustuvuse uurimiseks kasutatud erinevate sortide hübriidlutsernist ja punasest ristikust rohu ja silo keemiline koostis on toodud tabelis 1. Silo valmistati õitsemise alguse faasis. Hübriidlutsernist uuriti sorte 'Karl' ja 'Jõgeva 118' ning punasest ristikust sorte 'Jõgeva 433', 'Jõgeva 205', 'Ilte'(4x) ja 'Varte'(4x). Tetraploidne punase ristiku sort 'Varte' sisaldas rohkem proteiini (197 g/kg) kui teised sordid, kuid tema kuivainesisaldus oli liiga madal, mistõttu katesilo riknes.

Tabel 1. Lutserni ja punase ristiku rohu ning silo keemiline koostis

Table 1. Chemical composition of fresh grass and silage of lucerne and red clover

Materjal, liik, sort <i>Material, species, variety</i>	Kuivaine <i>Dry matter, g/kg</i>	Kuivaines / <i>In dry matter</i>			
		proteiini <i>crude protein, g/kg</i>	NDF, <i>g/kg</i>	N-ta e-a <i>N-free extractives, g/kg</i>	Metaboliseeruv energia <i>metabolizable energy, MJ/kg</i>
Rohi / <i>Fresh grass</i>					
Lutsern/ <i>Lucerne</i>	252	136	549	368	10,1
Punane ristik / <i>Red clover</i>	193	144	448	481	10,0
Silo/ <i>Silage</i>					
Lutsern/ <i>Lucerne</i>					
'Karl'	200	186	475	324	9,5
'Jõgeva 118'	190	160	519	299	9,2
Punane ristik / <i>Red clover</i>					
'Jõgeva 433'	174	142	452	435	9,4
'Jõgeva 205'	178	162	436	447	9,5
'Ilte'	150	169	434	484	9,3

Samast materjalist värske rohu ja silo proteiini lõhustuvuse kineetika uurimine näitas märkimisväärtset erinevust. Kui punase ristiku rohu proteiinist oli 8 tunniga vatsas lõhustunud 49,3%, siis silol toimus see kiiremini. Juba teisel inkubeerimistunnil oli lõhustunud 60,7% proteiinist. Veelgi rohkem erinev proteiini lõhustuvuse kineetika esines lutsernist rohu ja silo võrdlemisel. Kui lutsernist tehtud silo proteiinist lõhustus 2 tunni jooksul 79,5%, siis värskel rohul lõhustus alles 8–16 tunni pärast sama palju, 77,1–79,8% (tabel 2). Proteiini efektiivne lõhustuvus oli nii punase ristiku kui ka lutserni silol 8% võrra suurem kui rohul.

Proteiini lõhustuvust mõjutavad kõige rohkem mittevalgulise proteiini ja erinevate valgufraktsioonide hulk ning osatähtsus. Mittevalguline proteiin laguneb vatsas täielikult ja väga kiiresti, isegi kuni 300% tunnis (Chalupa, Sniffen, 2002). Silo sisaldab mittevalgulisi lämmastikuühendeid palju enam kui värske rohi, millest ta valmistati. Näiteks sisaldas punase ristiku rohi valgulist lämmastikku 760 g/kg ja sellest silo 439 g/kg, itaalia raihein aga vastavalt 863 g/kg ja 308 g/kg (Givens, Rulquin, 2002). Mittevalgulise lämmastiku sisaldus silos võib ulatuda isegi kuni 90%-ni. Rinne jt (1997) uurimuste järgi sisaldab kõrreliste silo valgulist lämmastikku 200–250 g/kg ja rohi 600–800 g/kg.

Liblikõielistest silo proteiini lõhustuvusele ja selle kineetikale avaldas rohkem mõju liik ja vähem sort (joonis 1). Proteiini efektiivne lõhustuvus hübriidlutserni sordil 'Karl' oli 85% ja sordil 'Jõgeva 118' 82%,

punase ristiku sordil 'Jõgeva 433' 74%, sordil 'Jõgeva 205' 75% ja sordil 'Ilte' 77% samas arengufaasis (tabel 3). Jambori ja Homolka (2003) uurimised näitasid, et lutserni silo proteiini lõhustuvus on tihedalt seotud proteiinisaldusega ($r^2=0,9252$).

Tabel 2. Punase ristiku ja hübriidlutserni rohu ja proteiini lõhustuvus

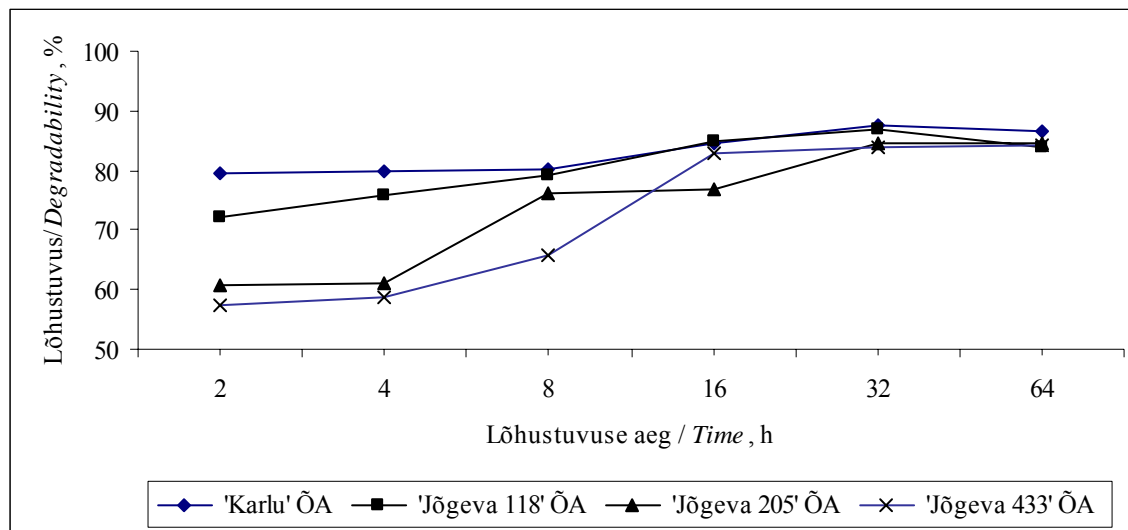
Table 2. Protein degradability of fresh grass and silage hybrid lucerne and red clover

Lõhustuvuse aeg, h Time of degradability, h	Punane ristik / Red clover		Hübriidlutsern / Hybrid lucerne	
	rohi / fresh grass	silosilage	rohi / fresh grass	silosilage
2	33,2	60,7	50,2	79,5
4	37,9	61,0	60,1	79,8
8	49,3	76,1	77,1	80,2
16	73,1	76,8	79,8	84,5
32	80,8	84,5	86,0	87,8
64	83,7	84,6	90,2	86,5
Efekttiivne lõhustuvus, % Effective degradability, %	67	75	77	85

Tabel 3. Erinevatest sortidest punase ristiku ja hübriidlutserni silo proteiini lõhustuvus

Table 3. Protein degradability of hybrid lucerne and red clover of different varieties

Lõhustuvuse aeg, h Time of degradability, h	Hübriidlutsern / Hybrid lucerne		Punane ristik / Red clover		
	'Karlu'	'Jõgeva 118'	'Jõgeva 433'	'Ilte'	'Jõgeva 205'
2	79,5	72,1	57,3	57,0	60,7
4	79,8	75,9	58,6	58,8	61,0
8	80,2	79,3	65,6	73,8	76,1
16	84,5	84,8	82,8	83,1	76,8
32	87,8	86,9	83,9	88,6	84,5
64	86,5	83,9	84,1	86,8	84,6
Efekttiivne lõhustuvus, % Effective degradability, %	85	82	74	77	75

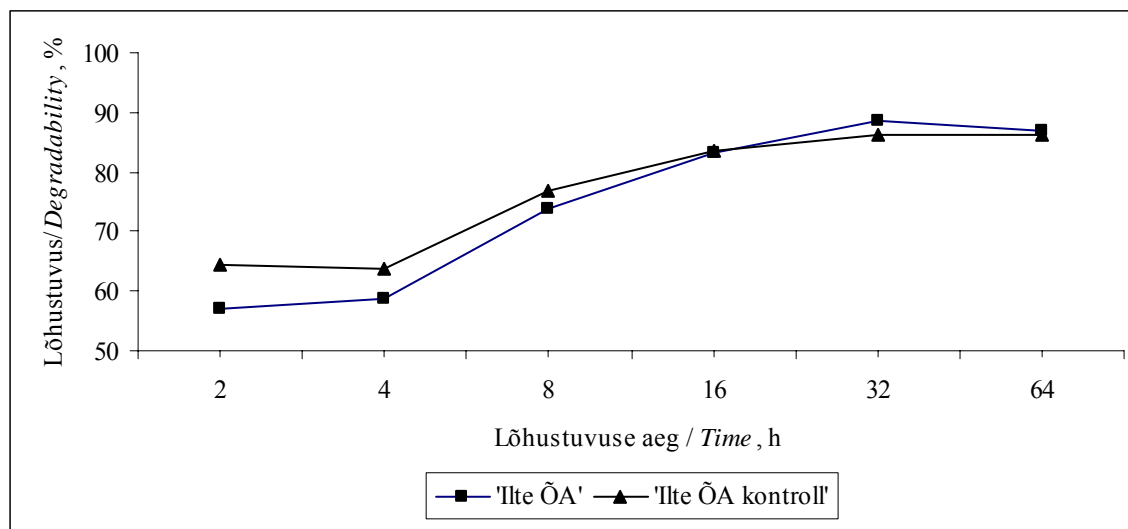


Joonis 1. Liblikõieliste liigi ja sordi mõju silo proteiini lõhustuvusele õitsemise alguse faasis

Figure 1. The effect of species and variety of legumes on silage protein degradability at early bloom stage

Uuriti punasest ristikust 'Ilte' nii konservandiga kui konservandita silo proteiini lõhustuvust, mille tulemused on toodud joonisel 2. Keemilise konservandiga valmistatud silo proteiini efektiivne lõhustuvus oli 77% ja konservandita ehk kontrollsilol 79%. Silo proteiini lõhustumise kineetikale avaldas protekteerivat mõju keemiline konservant. Kui pärast 2-tunnist vatsas inkubeerimist oli konservandiga silo proteiinist lõhustunud 57,0%, siis konservandita silol 64,4%. Proteiini lõhustumist vatsas aeglustas konservant kuni 16 tunnini. Seejärel

ühtlustus lõhustuvus nii konservandita kui ka konservandiga silos. Raiheinast kontrollsilos lämmastiku lõhustuvuseks saadi 81,22% ja konservandiga silol vastavalt 79,31% (Flores jt, 1999), mis samuti kinnitab konservandi protekteerivat mõju proteiini lõhustuvusele vatsas.



Joonis 2. Konservandi mõju ristiku silo proteiini lõhustuvusele

Figure 2. The effect of additive on the degradability of clover silage protein

Nagu uurimistulemused näitavad, lõhustus vatsas kiiremini ja rohkem lutsernist silo proteiin (tabel 4). Konservandiga valmistatud lutsernist silo proteiini keskmine efektiivne lõhustuvus oli 85% ja punasest ristikut silol vastavalt 75% ($P < 0,01$). Punasest ristikut silo proteiini lõhustuvus vatsas oli ka tunduvalt aeglasem, kuni 16 inkubatsioonitunnini. Erinevatest liblikõielistest silo proteiini lõhustuvust näitavad ka Homolka jt (2003) uuringud. Nende andmetel lõhustus punasest ristikut silo proteiin 75,8% ja lutsernist 85,57%. Salavu jt (1999) ning Potkanski jt (2002) märgivad, et ristiku tanniinisaldus avaldab tema proteiinile protekteerivat mõju, millest tuleneb ka punase ristiku proteiini väiksem lõhustuvus vatsas. Samuti põhjendatakse punasest ristikut silo proteiini väiksemat lõhustuvust polüfenüüloksidaasi sisaldusega, mis mõjutab hüdrolyüütilisi ensüüme (Hatfield, Muck, 1999).

Tabel 4. Hübridlutserni ja punase ristiku silo proteiini lõhustuvus

Table 4. Protein degradability of silage of hybrid lucerne and red clover

Lõhustuvuse aeg, h Time of degradability, h	Hübridlutsern / Hybrid lucerne n=4	Punane ristik / Red clover n=5
2	72,8	58,2**
4	76,6	59,6***
8	79,4	70,2**
16	85,6	79,8**
32	88,7	84,8
64	87,6	85,6
Efektiivne lõhustuvus,% Effective degradability,%	85	75**

Kokkuvõte

Optimeerides proteiini kasutamise efektiivsust mäletsejaliste söötmisel, lähtutakse nii vatsas lõhustuvast kui ka lõhustamata proteiinist. Sellepärast peetakse vajalikuks teavet silo kui põhisööda proteiini lõhustuvusest ja selle kineetikast.

Uurimistulemustest selgus, et samast materjalist värskel rohul ja silo proteiini lõhustuvuse kineetika on erinev. Punasest ristikut ja hübridlutsernist silo proteiini efektiivne lõhustus oli 8% võrra suurem kui värskel rohul.

Liblikõielistest silo proteiini lõhustuvusele ja selle kineetikale avaldas rohkem mõju heintaimede liik, vähem sort. Hübridilutsernist silo proteiini efektiivne lõhustuvus oli keskmiselt 85% ja punasest ristikut silol vastavalt 75% ($P < 0,01$). Punase ristiku proteiini vähesemat lõhustuvust põhjendatakse tema tanniini- ja polüfenüüloksidaasi sisalduse mõjuga. Erinevatest sortidest lutserni silo proteiini efektiivne lõhustuvus oli 82–85% ja punase ristiku sortidel 74–77%. Silo proteiini lõhustuvust vatsas aeglustas keemiline konservant kuni 16 inkubatsioonitunnini. Pärast seda proteiini lõhustuvus ühtlustus nii konservandiga kui ka konservandita silos. Keemilise konservandiga valmistatud silo proteiini lõhustuvus oli 2% võrra väiksem kui konservandita silol.

Autorid tänavad Eesti Haridusministeeriumi ja Eesti Teadusfondi G 4985 finantseerimise eest.

Kirjandus

- Chalupa, W., Sniffen, C. J. 2002. Carbohydrate, protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. – Ruminant Nutrition 4. Eds. Garnsworthy, P. S., Wiseman, J. Nottingham, University Press, p. 357–368.
- Fairbairn, R. L., Alli, I., Phillip, L. E. 1992. Proteolysis and amino acid degradation during ensilage of untreated or formic acid-treated lucerne and maize. – Grass and Forage Sci., vol. 47, p. 382–390.
- Flores, G., Castro, J., Arraez, A. G., Amil, A., Brea, T., Warleta, M. G. 1999. Effect of a biological additive on silage fermentation, digestibility, ruminal degradability, intake and performance of lactating dairy cattle in Galicia. – Proceedings of the XIIth International Silage Conference, Uppsala, Sweden, p. 181–182.
- Givens, D. I., Rulquin, H. 2002. Utilisation of protein from silage-based diets. – Proceedings of the XIIIth International Silage Conference, Auchincruive, Scotland, p. 268–282.
- Hatfield, R., Muck, R., 1999. Characterizing proteolytic inhibition in red clover silage. – Proceedings of the XIIth International Silage Conference, Uppsala, Sweden, p. 147–148.
- Homolka, P., Trínáctý, J., Tománková, O., Čerešňáková, Z. 2003. Nutritive value of silage for ruminants. – Proceedings of the 11th International Scientific Symposium “Forage Conservation”, Nitra, Slovak Republic, p. 162–163.
- Huhtanen, P. 2001. Hyvälaatuinen säilörehu on lypsylehman ruokinnan perusta. – Nurmi 2001 Symposium: esitykset ja tilastokuvauksia, L. 5–11.
- Jambor, V., Homolka, P. 2003. The effect of stage of maturity of alfalfa on content of nutritive value and degradability of crude protein. – Proceedings of the 11th International Scientific Symposium “Forage Conservation”, Nitra, Slovak Republic, p. 98–99.
- Jones, B. A., Hatfield, R. D., Muck, R. E. 1995a. Characterization of proteolysis in alfalfa and red clover. – Crop Sci., vol. 35, p. 537–541.
- Jones, B. A., Muck, R. E., Hatfield, R. D. 1995b. Red clover extracts inhibit legumes proteolysis. – Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 67, p. 329–333.
- Jurgens, M. H. 1997. Animal feeding and nutrition. – Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, USA, 577 pp.
- Kohn, R. A., Allen, M. S. 1995. Effect of plant maturity and preservation method on in vitro protein degradation of forage. – Journal of Dairy Science, vol. 78, No. 7, p. 1544–1551.
- Krizek, M. 1993. Biogenic amines in silage. I. The occurrence of biogenic amines in silage. – Archives of Animal Nutrition, vol. 43, p. 167–177.
- Kärt, O., Ots, M. 1999. Lähtekohad lüpsilehmadele jõusööda söötmiseks silottüübiliste ratsioonide kasutamisel. – Tõuloomakasvatus, nr 4, lk 19–22.
- Mariecia, F., Fychan, R., Jones, R. 1999. Nitrogen utilisation by lambs offered ensiled legumes. – Proceedings of the XII International Silage Conference, Uppsala, Sweden, p. 145–46.
- McDonald, P., Henderson, A. R., Heron, S. J. E. 1991. The biochemistry of silage. Chalcombe Publications, Marlow, 340 pp.
- Owens, V. N., Albrecht, K. A., Muck, R. E. 1999. Protein degradation and ensiling characteristics of red clover and alfalfa wilted under varying levels of shade. – Canadian Journal of Plant Science, vol. 79, p. 209–222.
- Ørskov, E. R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. – Agricultural Science, Cambridge, vol. 92, p. 499–503.
- Potkanski, A. K., Gulewicz, K., Michalak. 2002. Effect of tannin on the degradability of protein silage in rumen. – Proceedings of the XIIIth International Silage Conference, Auchincruive, Scotland, p. 306–307.
- Rinne, M., Jaakkola, S., Huhtanen, P. 1997. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. I. Organic matter digestion, rumen fermentation and nitrogen utilisation. – Animal Feed Science and Technology, vol. 67, p. 1–17.
- Salavu, M. B., Acamovic, T., Stewart, C. S., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. 1999. The use of tannins as silage additives: effect on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein. – Feed Science and Technology, vol. 82, p. 243–259.

Protein degradability of legumes

H. Kaldmäe, A. Olt, M. Vadi

Summary

The extent and process of silage protein hydrolysis are affected by several factors that in turn depend on silage material.

Kinetics of ruminal protein degradability of fresh hybrid lucerne and red clover, and that of silage prepared from them, also the effects of legume species, variety and additive on protein degradability were studied. Test silages from hybrid lucerne varieties 'Karl' and 'Jõgeva 118', and from red clover varieties 'Jõgeva 433', 'Varte'(4x), 'Jõgeva 205' and 'Ilte' (4x) were conserved into 3-litre jars at early bloom stage. Additive AIV 2000 was used. The jars were opened in 90 days.

Protein degradability was studied by the method of *in sacco* with fistulated cows. The studied feeds were incubated in the rumen for 2, 4, 8, 16, 32 and 64 hours. The calculated passage rate of feed particles from the rumen to the intestine was 5% per hour.

The tetraploid red clover variety 'Varte' was higher in protein (197 g/kg), compared to the other varieties, but its dry matter content was too low, resulting in spoilage of the test silage.

Protein degradability and kinetics of fresh grass and these of silage from the same material were significantly different. In 8 hours 49.3% of fresh red clover protein was ruminally degraded whereas for red clover silage protein this value was 60.7% already after 2 hour incubation. The protein degradability of lucerne silage was even higher. The effective protein degradability of fresh red clover was 67% and that of red clover silage 75%, whereas for hybrid lucerne these values were 77% and 85%, respectively.

The effective protein degradability of different lucerne varieties ranged between 82 and 85% and that of red clover varieties between 74 and 85% (Table 3).

Protein degradability of red clover silage was slowed down by the chemical additive to 16 incubation hours. After that protein degradability equalised in silages prepared with additives and in those without additives. Protein degradability of the silage prepared with the chemical additive was by 2% lower than of silage without additive.

Protein degradability of silage depends on the legume species and to a lesser degree on its variety. An average effective degradability of red clover silage was 75% and that of hybrid lucerne 85% ($P < 0.01$).